



**Universidad
Norbert Wiener**

**UNIVERSIDAD PRIVADA NORBERT
WIENER**

Escuela de Odontología

TESIS

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL *PSIDIUM*
GUAJAVA EN COMPARACIÓN A LA CLORHEXIDINA AL 0.12%
SOBRE EL *STREPTOCOCCUS MUTANS* (ATCC 25175) - 2019**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA
PRESENTADO POR:**

BACHILLER: Jacqueline Victoria, IRIGOYEN FUENTES

JURADO EVALUADOR:

Presidente: Dr. CD. Gómez Carrión, Christian

Secretario: Mg.CD Huayllas Paredes, Betzabeth

Vocal: Mg CD Alvan Suasnabar, Pablo

2021

HUACHO – PERÚ



**Universidad
Norbert Wiener**

**Actividad antibacteriana in vitro del *Psidium Guajava* en
comparación a la Clorhexidina al 0.12% sobre el *Streptococcus
Mutans* (Atcc 25175) – 2019.**

ASESOR:

DR. DAVID ARTURO TORRES PARIONA

Mi tesis está dedicada hacia mis queridos padres Fernando Irigoyen Camones y Niceda Fuentes Garro, a mis hermanos Mirian Irigoyen Fuentes, Brenda Irigoyen Fuentes y Nilton Irigoyen Fuentes por todo su amor, cariño, comprensión, y apoyo incondicional desde mi niñez, adolescencia y durante toda mi etapa universitaria; hasta hoy en día.

INDICE

	Págs.
Portada.....	I
Título.....	II
Dedicatoria.....	III
Índice.....	IV
Resumen.....	X
Abstract.....	XI
Introducción.....	XII

CAPITULO I: EL PROBLEMA

Págs.

1.1 Planteamiento del problema.....	1
1.2 Formulación del problema.....	2
1.2.1 Problema general.....	2
1.2.2 Problemas específicos.....	2
1.3 Objetivos de la investigación.....	3
1.3.1 Objetivo general.....	3
1.3.2 Objetivos específicos.....	3
1.4 Justificación de la investigación.....	4
1.4.1 Teórica.....	4
1.4.2 Metodológica.....	4

1.4.3 Práctica.....	5
1.5 Limitaciones de la investigación.....	5

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación.....	6
2.1.1 Nacionales.....	6
2.1.2 Internacionales.....	8
2.2 Bases teóricas.....	13
2.3 Formulación de hipótesis.....	22
2.3.1 Hipótesis general.....	22
2.3.2 Hipótesis específicas.....	22

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1 Método de investigación.....	23
3.2 Enfoque investigativo.....	23
3.3 Tipo de investigación.....	23
3.4 Diseño de la investigación.....	24
3.5 Población, muestra y muestreo.....	24
3.6 Variables y operacionalización.....	26
3.7 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	27
3.7.1 Técnica.....	27
3.7.2 Descripción.....	28
3.8 Procesamiento y análisis de datos.....	29
3.8.1 Técnicas estadística utilizadas.....	29
3.8.1.1 Descriptivo.....	29
3.8.1.2 Inferencial.....	29

3.9 Aspectos éticos.....	30
--------------------------	----

CAPITULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1 Resultados.....	31
4.1.1 Análisis descriptivo de los resultados.....	31
4.1.2 Análisis inferencial de los resultados.....	31
4.1.3 Discusión de resultados.....	37

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones.....	39
5.2 Recomendaciones.....	40

REFERENCIAS	41
--------------------------	----

ANEXOS	44
---------------------	----

Anexo 1: Matriz de consistencia.....	45
---	----

Anexo 2: Instrumento.....	46
----------------------------------	----

Anexo 3: Carta de aprobación de la institución para la recolección de los datos.....	49
---	----

Anexo 4: Constancia de identificación taxonómica de las hojas de guayaba...50	
--	--

Anexo 5: Constancia de preparación de extracto etanólico de hojas de guayaba	52
--	----

Anexo 6: Constancia de obtención del microorganismo.....	53
---	----

Anexo 7: Tabla de distribución normal de los datos del halo de inhibición por grupos de estudio. (Análisis de normalidad).....	54
Anexo 8: Informe del asesor de turnitin.....	55
Anexo 9: Fotos.....	56

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores descriptivos del halo de inhibición para el cultivo de Streptococcus Mutans por grupos de estudio.....	34
Tabla 2. Comparación de la actividad antibacteriana del Psidium Guajava al 5% y la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans.....	35
Tabla 3. Comparación de la actividad antibacteriana del Psidium Guajava al 10% y la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans.....	35
Tabla 4. Comparación de la actividad antibacteriana del Psidium Guajava al 15% y la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans.....	35
Tabla 5. Comparación de la actividad antibacteriana del Psidium Guajava al 20% y la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans	36
Tabla 6. Comparación de la actividad antibacteriana del Psidium Guajava al 5%, 10%, 15% y 20% entre ellas, sobre el Streptococcus Mutans	36

INDICE DE GRÁFICOS

Figura 1. Distribución de los valores del halo de inhibición por grupos evaluados.....	34
--	----

Resumen

Objetivo: Determinar la actividad antimicrobiana in vitro del *Psidium Guajava* al comparar con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175). **Materiales y métodos:** Este trabajo es de nivel aplicativo, tipo transversal y comparativo, diseño experimental. La muestra por cada grupo estuvo conformada por 20 discos de difusión embebidas previamente en extracto etanólico de guayaba en 5%, 10%, 15% y 20%, así como Clorhexidina al 0.12%, se colocó sobre el agar Mueller Hinton sembrado con cepas de *Streptococcus Mutans*, durante unas 24 horas se realizó la observación y medición los halos de inhibición. Para el análisis de los halos, se utilizaron medidas de tendencia central y desviación estándar; el contraste de hipótesis se realizó utilizando la prueba Kruskal-Wallis puesto que los datos no presentaron normalidad. **Resultados:** el extracto etanólico de guayaba (EEG) 5% presentó valores de $12,20\text{mm}\pm 0,77\text{mm}$ con mediana de 12 mm; EEG10% $13,30\text{ mm}\pm 0,57\text{ mm}$ y mediana de 13mm; EEG15% $14,30\text{mm}\pm 0,66\text{mm}$ y mediana 14mm; EEG20% $14,70\text{mm}\pm 0,57\text{mm}$ y mediana de 15mm; mientras que la clorhexidina 0.12% presento valores de $15,0\text{mm}\pm 0,79\text{mm}$ con mediana de 15mm. Se obtuvo que el EEG al 5% y 10% obtuvo diferencias estadísticamente significativas respecto a la CLX ($p < 0.05$), mientras que el EEG al 15% y 20% no alcanzó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$). **Conclusión:** El extracto etanólico de Guayaba al 15% y 20% presenta actividad antibacteriana muy similar con la Clorhexidina al 0.12%, frente al *Streptococcus Mutans*.

Palabras clave: *Psidium Guajava*, Clorhexidina, *Streptococcus Mutans*, método de difusión en agar.

Abstract

Objective: To compare the in vitro antibacterial activity of *Psidium guajava* at 5%, 10%, 15% and 20% compared to 0.12% chlorhexidine, on *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). **Materials and methods:** The work is of application level, transversal and comparative type, experimental design. The sample for each group consisted of 20 diffusion discs previously embedded in 5%, 10%, 15% and 20% ethanol extract of guava, as well as 0.12% chlorhexidine, was placed on the Mueller Hinton agar seeded with strains of *Streptococcus mutans*, at 24 hours observation and measurement of inhibition halos was performed. For the analysis of the halos, measures of central tendency and standard deviation were used; The hypothesis test was performed using the Kruskal-Wallis test since the data did not show normality. **Results:** the 5% ethanolic guava extract (EEG) presented values of 12.20mm \pm 0.77mm with a median of 12mm; EEG10% 13.30 mm \pm 0.57 mm and median of 13mm; EEG15% 14,30mm \pm 0.66mm and median 14mm; EEG20% 14.70mm \pm 0.57mm and median of 15mm; while 0.12% chlorhexidine showed values of 15.0mm \pm 0.79mm with a median of 15mm. It was obtained that the 5% and 10% EEG obtained statistically significant differences with respect to the CLX ($p < 0.05$), while the 15% and 20% EEG did not obtain statistically significant differences ($p > 0.05$). **Conclusion:** The 15% and 20% ethanolic guava extract shows very similar antibacterial activity with 0.12% chlorhexidine, compared to *Streptococcus mutans*.

Keywords: *Psidium guajava*, chlorhexidine, *Streptococcus mutans*, agar diffusion method.

Introducción

La guayaba tiene propiedades antimicrobianas contra agentes bacterianos como es el *Streptococcus mutans*.¹ Rajesh et al.(2014) mencionan que la guayaba presenta un efecto antibacteriano y antimicótico e inclusive también ayuda a controlar enfermedades periodontales,² de la misma manera, efectos similares presenta la clorhexidina, que es comúnmente usada por dentistas ya que cumple muchos requisitos, los cuales ayudan a disminuir la carga microbiana en la cavidad oral, al provocar la destrucción de la pared celular bacteriana a una concentración mínima de 0.12%, por ello es que se formuló el siguiente problema: ¿Cómo es la actividad antimicrobiana in vitro del Psidium Guajava en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans (ATCC 25175)?, por ello se plantea evaluar su eficacia antibacteriana midiendo los halos inhibitorios que logran formar al contorno de los discos de difusión que fueron sumergidos previamente por una hora en extracto etanólico de guayaba en sus diversas concentraciones y compararlo con la clorhexidina al 0.12%. El presente estudio no midió la concentración máxima de citotoxicidad y se pudo demostrar en este estudio de que la concentración mínima con efecto similares a la clorhexidina fue extracto etanólico de guayaba al 15%. Este estudio aporta una alternativa bactericida muy valiosa para prevenir la formación de la caries dental.

CAPITULO I

EL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

En la actualidad hay mucho interés por investigar nuevas formas de combatir distintos agentes patógenos, muchos estudios se han realizado a nivel internacional y tienen relación con el uso de diversas plantas. Como es sabido las plantas han sido utilizadas desde el principio de la humanidad para tratar y curar distintos tipos de enfermedades. La guayaba tiene propiedades antimicrobianas contra agentes bacterianos como es el *Streptococcus mutans*.¹ Autores como Rajesh et al.(2014) mencionan que la guayaba presenta un efecto antibacteriano y antimicótico e inclusive también ayuda a controlar enfermedades periodontales², efectos similares a la clorhexidina la cual es comúnmente usada por dentistas ya que cumple muchos requisitos, los cuales ayudan a disminuir la carga bacteriana de la cavidad bucal.

La guayaba es un árbol el cual tiene múltiples funciones conocidas como antidiarreico, antimicrobiano, antimutagénico y antioxidante los cuales tienen funciones y formas de actuar determinadas³, el tema que se abordara aquí es su acción sobre el *Streptococcus mutans* que es la bacteria más recurrente y además se le considera el principal microorganismo iniciador de caries debido a su capacidad de colonizar rápidamente superficies duras además de ser acidogénica y acidúrica causando que el nivel del pH disminuya de esta manera crea el ambiente propicio para la aparición de la caries dental, debido a ello es importante buscar el uso de antimicrobianos que anulen el efecto acidogénico

y/o acidúrico de la bacteria. La guayaba presenta dentro de sus componentes químicos a los flavonoides los cuales tienen función antimicrobiana.³

Por otro lado, la clorhexidina al entrar en contacto con las membranas las daña, alterando su permeabilidad, en pocas concentraciones causa que se pierdan los constituyentes citoplasmáticos de bajo peso molecular mientras que si son altas define la coagulación del citoplasma. El resultado obtenido no solo se debe la concentración sino también del tipo de especie microbiana.¹³

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Cómo es la actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans?

1.2.2 Problemas específicos

- ¿Cómo es la actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava al 5% sobre el Streptococcus Mutans, en comparación con la Clorhexidina al 0.12%?
- ¿Cómo es la actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava al 10% sobre el Streptococcus Mutans, en comparación con la Clorhexidina al 0.12%?
- ¿Cómo es la actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava al 15% sobre el Streptococcus Mutans, en comparación con la Clorhexidina al 0.12%?

- ¿Cómo es la actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava al 20% sobre el Streptococcus Mutans, en comparación con la Clorhexidina al 0.12%?
- ¿Qué concentración de Psidium Guajava presenta mejor actividad antibacteriana sobre el Streptococcus Mutans?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Determinar la actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar la actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava al 5% en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans.
- Determinar la actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava al 10% en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans.
- Determinar la actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava al 15% en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans.
- Determinar la actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava al 20% en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans.
- Comparar la actividad antibacteriana del Psidium Guajava al 5%, 10%, 15% y 20% entre ellas, sobre el Streptococcus Mutans.

1.4. Justificación de la investigación

1.4.1 Teórica

Esta investigación pretende proporcionar una alternativa para la inhibición del *Streptococcus mutans* y ser utilizado como alternativa para prevenir la caries dental, ya que el *Streptococcus mutans* es el primordial agente piógeno de la patología antes mencionada. Es por ello que se hizo un estudio minucioso de la actividad antibacteriana del *Psidium guajava* evaluando cuatro concentraciones diferentes, ya que los antecedentes realizados marcan la pauta de que dichas concentraciones presentan efecto bactericida. El fundamento teórico de escoger este producto es porque en sus componentes químicos presentan flavonoides que inhiben el crecimiento bacteriano. Se ha demostrado que la *Psidium guajava* presenta flavonoides y quercetina, y que estos compuestos químicos presentan acción bactericida, lo que nos induce que logrará eficacia antibacteriana frente al *Streptococcus mutans*.

Por otro lado, este estudio brinda un aporte a futuras investigaciones a ensayos clínicos controlados.

1.4.2 Metodológica

Para el desarrollo de esta investigación se tuvo el asesoramiento metodológico especializado, así como el acceso a los equipos e instrumentales necesarios para el desarrollo de la misma.

Al elaborar este trabajo de investigación con los extractos de *Psidium Guajava* a diferentes concentraciones y demostrar su eficacia, validez y confiabilidad, van a poder ser usados en nuevos trabajos de investigación.

1.4.3 Práctica

La aplicación práctica de este estudio sería que al encontrar la concentración ideal de actividad antibacteriana podría proponerse la producción de enjuagatorios bucales y pastas dentales a base de *Psidium guajava*.

Además, brinda una excelente alternativa antibacteriana a los pacientes puesto que este producto es de fácil acceso al público.

1.5. Limitaciones de la investigación

Una limitación es la contaminación de algunas muestras durante el sembrado de cepas de *Streptococcus mutans* en agar Mueller Hinton, por lo que tuvieron que ser eliminadas y el poco tiempo que se dispuso en ejecutar la parte experimental después de haber activado las cepas bacterianas.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

2.1.1 Antecedentes nacionales

Álvarez et al. (2018), Huánuco; con su trabajo de investigación “*Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico de la Psidium guajava (guayaba) y Punica Granatum (granada) sobre el Streptococcus mutans estudio in vitro*”.⁽¹⁾ “Su objetivo fue evaluar si existe una diferencia entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans in vitro*.” La investigación fue de nivel explicativo con diseño experimental de tipo cuantitativo, comparativo y longitudinal. Se elaboró el extracto de la *Psidium guajava* y *Punica granatum* que fueron embebidos con alcohol etílico rectificado a 96° y dejándolo macerar por 15 días, moviéndolo diariamente. Luego se preparó el extracto en diferentes concentraciones (al 100%, 75%, 50%, 25% y 12,5%) guardándolos en un frasco para su posterior uso. Se utilizó el sistema de disco difusión en agar. La cepa bacteriana fue reactivada en 2 placas de Agar sangre, llevada hacia la incubadora a 37 °C por 24h en ausencia de oxígeno. Se cogieron 5 colonias y se colocaron en un tubo de ensayo con 5 mL contenida de agua destilada, se llevó a la incubadora a 37 °C hasta conseguir una turbidez semejante al 0.5 de la escala de Mc Farland. El cultivo de las cepas se llevó a cabo en 10 placas petri contenidas de agar Müller Hinton bajo el sistema de difusión, usando el extracto etanólico de la *Psidium guajava* y *Punica granatum* en concentraciones de 100%, 75%, 50%, 25% y 12,5%, luego se colocó en una

incubadora en ausencia de oxígeno a 37 °C, después de 24 horas y 72 horas se observaron y midieron los halos.

Se comparó los extractos con la granada y la guayaba, se encontraron un halo de inhibición promedio de 7.675 para la granada y 15.4mm para la guayaba, la discrepancia de promedios entre los extractos etanólicos, reveló diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$). Se llegó a la conclusión que sí hay diferencias entre el efecto bactericida del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) y de la *Punica granatum* (granada) sobre el *Streptococcus Mutans*.¹

Chero D. (2016), Chiclayo; con su trabajo de investigación “*Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de Psidium guajava y Medicago sativa sobre Streptococcus mutans ATCC 25175*”.⁽⁹⁾ “Su objetivo fue evaluar la eficacia antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de *Psidium guajava* y *Medicago sativa* sobre *Streptococcus mutans*.” Ésta investigación fue de tipo transversal, comparativo, de diseño experimental y nivel aplicativo. Se prepararon 20 concentraciones diferentes en cada extracto de 1 a 20 mg/ml, un control positivo que fue clorhexidina al 0,12% y el control negativo que fue etanol absoluto. Para determinar la eficacia antibacteriana de los extractos se empleó el sistema de difusión en disco y para evaluar la concentración mínima de inhibición (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) se empleó el proceso de microdilución en caldo. Se obtuvo los resultados midiendo el diámetro de los halos de inhibición. Se concluyó que tanto la CMI como la CMB fue < 1 mg/ml. Con el extracto alcohólico a base de *Psidium guajava* se obtuvo halos mayores a los 28 mm, a una concentración de 18 mg/ml. Por otra parte el extracto de *Medicago sativa* presentó mayor inhibición a la concentración de 9 mg/ml, esto no fue significativo. Se piensa que el efecto del extracto está asociado a los compuestos fenólicos que tiene la

planta. Se llegó a la conclusión que no hay efecto bactericida sinérgico entre los extractos de hojas de *Medicago sativa* y *Psidium guajava* sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), ya que los halos de inhibición que presentaron estuvieron por debajo del control negativo.⁹

Montenegro P. (2017), Trujillo; con su trabajo de investigación “*Efectividad antibacteriana de la hoja de la guayaba y clorhexidina sobre el streptococcus mutans*”.⁽¹⁰⁾ “Tuvo como objetivo determinar la efectividad antibacteriana de las hojas de la guayaba y la Clorhexidina en concentraciones mínimas inhibitorias contra el *Streptococcus mutans*” Por medio de una investigación de enfoque cuantitativa, de nivel explicativo, y diseño experimental, se llevó a cabo en ocho tubos de ensayo en los cuales se cultivó el *Streptococcus mutans*, y se aplicó el extracto etanólico de las hojas de guayaba en diferentes concentraciones al 32mg/ml, 16mg/ml, 8mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml, 1mg/ml, 0.5mg/ml, 0.25mg/ml ,la muestra estuvo compuesta por cultivos de las cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* del laboratorio de la Facultad de Medicina (UNT), logrando lo siguiente: Se determinó la eficacia antimicrobiana en una mínima concentración del extracto frente al *Streptococcus mutans* obteniendose como resultados que la Concentración minima inhibitoria es al 0.50mg/ml y la concentración mínima bactericida 0.25mg/ml. Para el control positivo se utilizó la clorhexidina al 0.12 % que tuvo un resultado positivo obteniendo halos de inhibición de 14mm en los ocho discos.¹⁰

2.1.2 Antecedentes Internacionales

Bhagavathy et al. (2018), India; con su trabajo de investigación “*Identificación de inhibidores de la glucosil transferasa de Psidium guajava contra Streptococcus*

mutans en caries dental".⁽⁵⁾ "Tuvo como objetivo determinar el efecto beneficioso de los compuestos bioactivos en *Psidium guajava* (*P. guajava*) y su papel inhibitorio frente a *S. mutans* de la caries dental." Este trabajo fue de nivel descriptivo, transversal, de diseño no experimental. El extracto etanólico se usó para el análisis de GC-MS para la determinación de compuestos bioactivos. Los resultados confirman la existencia de 7 compuestos diferentes. Los compuestos bioactivos identificados fueron corynan-17-ol, 18,19-didehidro-10-methoxy acetate, Copaene, 3Bicyclo (5.2.0) nonano, 2-methylene-4,8,8-trimethyl-4 vinyl, Azulene, 1, 2,3a, 4,5,6,7-octahidro-1,4-dimetil-7-metileténil) [1R- (1a, 3aa0,4a0,7a0)], a-Caryophyllene, Alloaromadereene oxide- (1) y Androstan-17-one, 3-ethyl-3-hydroxy- (5a). La saliva de la caries dental durante y después del tratamiento del extracto acuoso de la hoja se utilizó para el análisis de la carga bacteriana y para determinar la actividad de la glucosil transferasa (GTF). El resultado obtenido a diferentes intervalos de tiempo, mostró una disminución significativa ($P < 0.01$) en la carga bacteriana de saliva en el tratamiento con *P. guajava*. Los estudios de acoplamiento molecular identificaron la interacción entre GTF y los compuestos bioactivos de *P. guajava*. Los compuestos activos anticariogénicos interactuaron a través de sitios activos de sacarosa e inhibieron la formación de glucano. El estudio sugirió que se podría maximizar el efecto anticariogénico de la planta medicinal seleccionada.⁵

Shekar et al. (2014), India; con su trabajo de investigación "*Eficacia antimicrobiana de las combinaciones de Acacia nilotica, Murraya koenigii L. sprengel, Eucalyptus hybrid y Psidium guajava en colonizadores de placas primarias*".⁽⁶⁾ "Su objetivo fue evaluar la eficacia antimicrobiana de las combinaciones dobles de *Acacia nilotica* (AN), *Murraya koenigii L. Sprengel* (MKL), híbrido de eucalipto y *Psidium guajava* en colonizadores de placa primaria." Se hizo una investigación, de nivel aplicativo,

de tipo transversal y diseño experimental. Los extractos de plantas de AN, MKL. *Sprengel*, *Eucalyptus hybrid* y *P. guajava* se prepararon usando el aparato Soxhlet. Se prepararon las soluciones madre de extractos de plantas individuales (100 mg / ml). Se mezclaron cantidades iguales de soluciones stock para obtener seis combinaciones dobles de extractos de hierbas. La prueba del efecto antibacteriano se realizó frente a tres colonizadores de placa primarios usando el sistema de difusión de pozos de agar. Se usaron 0,12% de clorhexidina y dimetilsulfóxido como controles positivos y negativos. La zona de inhibición media entre las categorías se comparó utilizando el Análisis de varianza de una vía y la prueba post hoc de Tukey. La combinación de AN y *P. guajava* produjo el diámetro medio más alto de la zona de inhibición (21,08 mm \pm 2,11) frente a *Streptococcus mutans*. La clorhexidina produjo la menor zona de inhibición contra *S. mutans* (14.50 \pm 2.07). La combinación de AN y *P. guajava* produjo la máxima eficacia antimicrobiana contra *Streptococcus sanguis* (19.67 \pm 1.03) y *Streptococcus salivarius* (20.33 \pm 1.86). Todas las combinaciones de extractos vegetales tienen el potencial de ser utilizados como agentes antiplaca y anticaries. Las combinaciones de extractos de hierbas ofrecen una mayor eficacia antimicrobiana debido a los efectos sinérgicos además de ralentizar el desarrollo de la resistencia.⁶

Rajesh et al. (2014), India; con su trabajo de investigación “*Eficacia antimicrobiana del mesocarpio de Punicagranatum, hoja de Nelumbonucifera, hoja de Psidiumguajava y extracto de Coffeacaneophora en patógenos orales comunes: un estudio in vitro*”.⁽²⁾ “Tuvo como objetivo determinar la eficacia in vitro de extractos de cáscara de granada, hojas de loto, hojas de guayaba y café en microorganismos orales.” Este estudio fue de tipo transversal, comparativo, de diseño experimental y nivel aplicativo. Se prepararon concentraciones de 1%, 5%, 10%, 15% y 20% para

cada uno, seguidas de pruebas de eficacia utilizando el sistema de difusión de disco sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Candida albicans*. Se encontró que los cuatro extractos eran efectivos contra *S. mutans* y *S. mitis*, con una eficacia máxima contra *S. mutans* y *S. mitis* exhibidos por la granada y el loto. La eficacia antifúngica fue demostrada por el café y la granada. La guayaba, el loto y el café fueron efectivos contra *P. intermedia*, mientras que solo el café resultó efectivo contra *P. gingivalis*. Todos los resultados obtenidos fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$). La granada, la guayaba, el loto y el café mostraron un efecto anticariogénico significativo, mientras que el café resultó ser más eficaz contra los patógenos periodontales y la *Candida albicans*. Los resultados revelaron que los productos naturales pueden usarse como adyuvantes económicos y adecuados para medicamentos y compuestos sintéticos y que su uso sensato podría no solo ayudar a inhibir los efectos secundarios de los productos químicos sintéticos, sino también demostrar ser rentables en las economías en desarrollo.²

Shekar et al. (2015), India; con su trabajo de investigación “*Eficacia antimicrobiana de Acacia nilotica, Murraya koenigii L. Sprengel, Eucalyptus hybrid y Psidium guajava en colonizadores de placas primarias: una comparación in vitro entre el proceso de extracción en caliente y en frío*”.⁽⁷⁾ “Su objetivo fue determinar y comparar el efecto antibacteriano de cuatro extractos de plantas obtenidos mediante métodos de extracción en frío y en caliente contra el *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus salivarius*.” Este estudio fue de tipo transversal, comparativo, de diseño experimental y nivel aplicativo. Las hojas de *Acacia nilotica*, *P. guajava*, *Eucalyptus hybrid*, *Murraya koenigii* y *L. Sprengel* fueron recolectadas de las áreas circundantes, identificadas y autenticadas por un

taxonomista. Las hojas se lavaron, se dejaron secar a la sombra y se trituraron a mano para obtener un polvo grueso. Esto se trituró posteriormente en un polvo fino y se extrajo con etanol mediante infusión en frío y proceso de extracción en caliente. La prueba de eficacia antimicrobiana se realizó en cepas de *S. mutans*, *S. sanguis* y *S. salivarius* de la American Type Culture Collection utilizando un método de difusión en agar. Se usaron 0,12% de clorhexidina y dimetilsulfóxido como controles positivos y negativos. Se comparó la zona de inhibición media usando una concentración del 10% de estos extractos usando una prueba t de muestra independiente y un análisis de varianza de una vía. Los cuatro extractos vegetales inhibieron el crecimiento de *S. mutans*, *S. sanguis* y *S. salivarius*, independientemente del método de extracción. Los extractos de *A. nilotica*, *P. guajava* y *E. hybrid* derivados de ambos métodos de extracción mostraron una zona de inhibición significativamente mayor contra *S. mutans* en comparación con *Murraya koenigii* L. Sprengel y chlorhexidine. Los extractos de *A. nilotica* y *E. hybrid* exhibieron una mayor zona de inhibición contra *S. sanguis*, mientras que los extractos calientes de *M. koenigii* L. Sprengel exhibieron una zona más alta de inhibición contra *S. mutans*. Los cuatro extractos de plantas obtenidos mediante extracción en caliente o en frío fueron efectivos contra estas bacterias y tienen el potencial de ser utilizados como agentes antiplaca.⁷

Gauniyal et al. (2014), India; con su trabajo de investigación “*Actividad antimicrobiana de dieciséis plantas medicinales contra la flora oral y su comparación de eficacia con clorhexidina al 2%*”.⁽⁸⁾ “Su objetivo fue evaluar la actividad fitoquímica y antimicrobiana de dieciséis plantas medicinales contra cinco cepas microbianas que causan infecciones orales.” Este estudio fue de tipo transversal, comparativo, de diseño experimental y nivel aplicativo. En el análisis

fitoquímico se encontraron alcaloides, flavonoides, glucósidos, taninos, saponinas, azúcares reductores y esteroides en la mayoría de las plantas medicinales. La actividad antimicrobiana del extracto etanólico de dieciséis plantas medicinales se evaluó mediante un método de difusión contra *Streptococcus Mutans*, *Enterococcus Faecalis*, *Lactobacillus Acidophilus*, *Candida Albicans* y *Candida Tropicalis*. Los extractos etanólicos de *Calendula officinalis* y *Mangifera indica* no fueron efectivos contra *Streptococcus Mutans* y *Enterococcus Faecalis*, respectivamente. Sin embargo, *Azadirachta indica*, *Centella Asiática*, *Lansea Coromandelica*, *Rosa Centifolia*, mostraron actividad antimicrobiana y el extracto de *Acacia Nilotica*, *Citrus Limon*, *Citrus Sinesis*, *Emblica Officinalis*, *Glycyrrhiza Glabra*, *Juglans regia*, *Ocimum Sanctum*, *Mentha piperita* y *Psidium Guajava* mostraron fuerte actividad antimicrobiana contra la mayoría de las especies de prueba. Los extractos de etanol de *Syzygium aromaticum* muestran una fuerte actividad antimicrobiana contra todas las especies de prueba.⁸

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Psidium Guajava

Se desconoce su origen pero es natural de América tropical que se ha propagado de forma silvestre en otras zonas tropicales del mundo. En la actualidad se extiende desde México y Centroamérica, hasta Sudamérica, es una especie muy habitual en más de 50 países, con trópico húmedo.

Esta especie es clasificada en:

- Clado: Malvidas
- Orden: Myrtales
- Familia: *Myrtaceae*

- Especie: *P. guajava*.
- Nombre común: “*Guayabo*”.¹¹

Morfología General

La guayaba es un árbol muy ramificado, que mide de 2.5 a 10 m de alto. Es fácil diferenciarlo ya que posee una corteza suave y delgada, de color gris que se descama con frecuencia. Sus hojas pueden ser redondeadas o elípticas de color verde claro, que miden de 10 a 15 cm. Sus flores pueden medir de 25 a 30 mm de ancho, tiene 4 a 5 pétalos de color blanco, presenta un cáliz largo de estambres blancos y unas anteras de color amarillo.¹¹

El fruto de la guayaba es de forma redonda con olor fuerte y agradable. Se encuentran también otras especies con formas de pera. Tiene una pulpa consistente y carnosa con un sabor agridulce, en su interior presenta una gran cantidad de semillas muy pequeñas de color amarilla claro. En promedio pueden pesar entre 20 a 500 g. Cuando la fruta está madura varía de verde claro a un crema amarillento, y la pulpa puede ser rosado, rojo, blanco, amarillo o anaranjado.

Ecología y Adaptación

Se ubica a nivel del mar hasta casi los 1500 m.s.n.m, pero es más frecuente ubicarla entre 0 y 1200 msnm, en zonas con 20° a 30° C. Esta planta necesita estar muy expuesta al sol, de preferencia lugares con estaciones secas, debido a que en zonas que presentan lluvias constantes, es más atacada por enfermedades.

Es capaz de vivir en periodos largos de sequía, hasta por seis meses. Se acondiciona a diferentes tipos de suelos; aunque, los suelos preferidos son los fértiles y llenos de materia orgánica. Pueden soportar constantes inundaciones. Se

ajusta a un pH entre 5 y 7 y la mayoría no se desarrollan muy bien en suelos cálcicos.¹¹

Manejo y Cultivo

Su cultivo por semilla botánica es el sistema más utilizado. Se seleccionan semillas de los frutos maduros tomados de árboles selectos que se dejan fermentar dentro de la fruta por 72 horas, se procede a lavar y secar bajo el sol. Para plantarlas, primero se colocan a remojar en agua fría, por varias horas, o también se puede colocar en agua recién hervida por 5 minutos, para poder acelerar la germinación y sean posteriormente plantados en almácigos.¹¹

Después de que las plantas consigan 3 cm de alto y se formen 3 hojas verdaderas o nomófilos, son trasplantadas a bolsas plásticas. Después de que alcanzan los 30 cm de altura, son trasplantadas al campo definitivo. Este tipo de cultivo no es recomendado para la productividad comercial, debido a que las especies pierden sus características y se obtienen frutos de baja calidad.

Hay varios sistemas de propagación vegetativa: por acodos, injertos, estacas, hojuelas y estacas de raíces.¹¹

Composición Química

Existen pruebas que las hojas de este árbol están compuestas de taninos y fenoles, flavonoides y triterpenos y esteroides, también está compuesto de saponinas y compuestos aminados. Se ha encontrado un aceite esencial y algunas sustancias

volátiles. También se ha reportado que contiene ácido ascórbico y otros flavonoides.

Se ha encontrado un flavonol de naturaleza galoi-glicósido, junto a cinco nuevos quercetin-glicósidos.³

Perfil Antimutagénico

Se ha determinado que el extracto acuoso de hojas de guayaba es capaz de inactivar a mutágenos de acción directa, en cepas de *Salmonella typhimurium*. Pasado 1 año, se aisló (+)-galocatequina, un elemento bio-antimutagénico, se probó que este, reduce la actividad mutagénica relativa sobre mutación inducida por rayos Ultravioleta en *Escherichia coli*.³

Importancia clínica

Las hojas de *Psidium guajava* son muy utilizadas para resolver problemas del sistema respiratorio, como resfriados, tos y el pecho comprimido, a base de infusiones o preparaciones para tomar o inhalar, pueden ingerirse también junto a otras plantas (*Persea americana*, *Anacardium occidentale*). Para tratar inflamaciones externas, se aplican hojas calientes en la zona afectada, también se puede tratar dolores de estómago y diarreas, con las hojas y raíces cocidas, o solamente se trituran las hojas con los dientes.³

La guayaba tiene gran aprobación en la medicina natural, su uso es muy extenso, se utilizan todas las partes de ésta planta, aunque las hojas y el fruto son los más utilizados. En Brasil, el guayabo se considera un astringente y diurético, y es muy utilizado para tratar los mismos problemas en el Perú. Se recomienda hacer gárgaras con las hojas cocidas, para tratar la laringitis e inflamación de la boca,

también es utilizada de manera externa para tratar úlceras en la piel, y descensos o irritaciones vaginales. La farmacéutica etnobotánica de Perú relata que cocer de 30 g/L de corteza o fruto inmaduro de *Psidium guajava* se utiliza como astringente y también para tratar diarreas; por otro lado, la preparación de 15 g/L de las hojas se usa como hemostático-enpéptico. En las dos situaciones se ingiere tomando un vaso, 3 a 4 veces al día.³

Método de obtención por extracto hidroalcohólico

Se realiza por extracción de las hojas secas de la planta, con una disolución de alcohol en agua del 25 – 50%. La hoja es molida en partículas no muy pequeñas que se combinan con la disolución alcohólica y se guarda en un frasco hermético en un lugar fresco y sin presencia de luz. La solución debe de cubrir por completo el material vegetal y es aconsejable usar un frasco del mismo volumen para que no quede cámara de aire dentro del recipiente. Cada cierto tiempo se agita el frasco para uniformizar la solución. Después de unos meses que varía según la planta y otros factores (generalmente de uno a tres meses), se procede a colar y filtrar el extracto que se envasa y guarda de manera apropiada. Es una extracción simple que tarda dependiendo de la temperatura ambiente, del tamaño de partícula del sólido y agitación, por lo que se deja un tiempo bastante largo, debido a que se realiza a temperatura ambiente y con poca agitación.¹²

Las mezclas alcohol/agua extraen muy bien gran cantidad de principios activos encontrados en las hojas, ya sean aromas, pigmentos, ceras, azúcares. La concentración que se obtiene del extracto en principios activos puede variarse dependiendo de la cantidad de hojas que se utiliza con una misma cantidad de mezcla hidroalcohólica; logrando obtener diferentes concentraciones ya sean al

5%,10%,15%,20%; cuanto mayor es la cantidad de las hojas, más concentrada saldrá la tintura.

La mezcla de extracción puede disolverse con agua para bajar su concentración de alcohol y principios activos. Si se deja el extracto con una concentración de alcohol menor al 15% v/v puede dañarse a causa del crecimiento de microorganismos. Por esta razón se utiliza alcohol en la obtención de extractos.¹²

2.2.2 Clorhexidina

Es uno de los antisépticos con más referencias bibliográficas y viene a ser uno de los más utilizados en odontología, ya que es el que tiene mayor sustantividad, aunque nos permite un nivel de antisepsia baja.

La clorhexidina se utiliza en forma de digluconato. Es efectiva contra bacterias gram+ y gram-, siendo menos activa contra *Pseudomonas* y especies de *Proteus*. A menudo se le agregan surfactantes catiónicos o no iónicos para mejorar sus propiedades detergentes y humectantes.¹³

La clorhexidina se inactiva por la sangre y algunos tipos de materia orgánica. Por lo que es de origen catiónico logra su mayor actividad a un pH de 8, según que el pH disminuye, va disminuyendo su efectividad y se anula su capacidad bactericida cuando el pH es menor a 5.2.¹³

Mecanismo de Acción

La clorhexidina al entrar en contacto con las membranas las daña, provocando alteraciones en su permeabilidad, en mínimas concentraciones causa la pérdida de los constituyentes citoplasmáticos de bajo peso molecular, y en concentraciones altas provoca la coagulación del citoplasma.

El efecto obtenido se debe tanto a la concentración como al tipo de especie microbiana.¹³

En la cavidad bucal se adsorbe con facilidad a las zonas de contacto, tales como los dientes con placa bacteriana, proteínas salivales y a la hidroxiapatita. Los depósitos de clorhexidina se originan por la interacción reversible de la molécula de la clorhexidina con grupos fosfato, sulfato y carboxilo de los tejidos blandos y duros.¹⁴

2.2.3 *Streptococcus Mutans*

Representa a la familia más recurrente del grupo. Se encuentra entre el 70 a 90% de la población dentada.¹⁵

En personas que presentan caries o con predisposición a la caries, el número se va a elevar considerablemente. Se le reconoce como la bacteria cariogénica por excelencia. Debido a su facultad de colonizar superficies duras, se aísla principalmente desde las placas supragingivales, radiculares y saliva, donde su formación es secundaria a la colonización de la placa.¹⁵

En su parte antigénica se encuentran los polisacáridos parietales c, e, f, y proteínas ligadas a la mureina que se les conoce como antígenos I/II (o llamadas B, P1 o Pac). Estas proteínas o algunas semejantes a ellas son parte de los procesos adhesivos:

a) como adhesinas al interaccionar con receptores de la película adquirida ricas en prolina y b) como glucosiltransferasas y receptoras de glucanos y fenómenos agregativos y coagregativos.¹⁵

El *Streptococcus Mutans* fue descrito por Clarke, aunque no estaba reconocida como especie independiente sino hasta la edición 8° del manual de Bergey.

Después de varios exámenes serológicos revelan que las cepas bacterianas de *S. mutans* son heterogéneas y pueden ser subdivididas dentro de 7 serogrupos diferentes. La división de las cepas de *S. mutans* se llevó a cabo en base al test bioquímico y fisiológico propuesto por Facklam. La colonización de la boca por las bacterias de este grupo es muy importante en la ecología bucal, dado que, pertenecen a la flora habitual, siendo así que por estar colonizado no significa que obligatoriamente se desarrolle de caries dental, debido a que su presencia necesita estar relacionada con otros factores. También hay que tener en cuenta las diversas cualidades que poseen estas bacterias y que podrían incrementar su patogenicidad. ¹⁵

Mecanismos de Adherencia

El *Streptococcus mutans* se adhiere a la superficie denterial a partir de 2 fases, en primer lugar una interrelación inicial reversible entre el individuo y la superficie de los dientes cubiertos por saliva y una segunda fase irreversible que es especialmente guiada por un glucano insoluble, sintetizado a partir de una sacarosa por la acción enzimática de la glucosiltransferasa. En presencia de sacarosa, *Streptococcus mutans* sintetiza el glucano insoluble, este se adhiere a la superficie sólida, así como también la superficie dentaria. Por lo cual, una forma de prevenir la caries dental sería interrumpiendo este proceso. ¹⁵

Características bioquímicas

La catalasa viene hacer la enzima que preserva a las células frente peróxido de hidrogeno que se produce tras metabolismo del oxígeno. Catalizada la producción de oxígeno y agua a base del peróxido de hidrogeno. ¹⁵

La actividad catalasa se halla agregando unas gotas de H₂O₂ (3%) a las colonias; la formación de burbujas nos muestra que se encuentra presente la enzima.¹⁵

Los microorganismos anaerobios o anaeróbicos facultativas, usualmente descomponen carbohidratos a ácidos orgánicos y gas, por lo tanto, los usa como fuente de energía, demostrando ésta actividad por el ph ácido que presenta el medio.¹⁵

Definición de términos básicos

- **Agar Mueller Hinton:** El medio de Mueller-Hinton contiene unos índices mínimos de calcio y magnesio de 60mcg/ml de calcio y 20 mcg/ml de magnesio, pues toda variación de importancia implica errores de lectura significativos.¹⁶
- **Concentración Mínima Inhibitoria:** Es la concentración mínima del agente antibacteriano que va ser capaz de inhibir el crecimiento de bacterias.¹⁶
- **Halos de Inhibición:** Como cada antimicrobiano difunde a una velocidad distinta y la difusión está influenciada por muchos factores y eventualidades, no es de capital importancia dar una precisión matemática de las zonas de inhibición sino que es correcto valorar estas sencillamente por el diámetro del halo, suele ser distinto para cada antibiótico y cada microorganismo.¹⁶
- **Streptococcus Mutans:** Son bacterias cariogénicos que están relacionadas con la caries dental, ésta se produce como consecuencia a las alteraciones en el balance habitual de la microflora de la placa dentaria ocasionados por los cambios en las condiciones del medio.⁴
- **Taxonomía:** Viene a ser la división o escalón de las plantas se compone de grupos subordinados que se compone de clase, subclase, orden, familia, genero, especie, variedad, forma.¹⁷

2.3 Formulación de hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

La actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans es efectiva.

2.3.2. Hipótesis específicas

- La actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava al 5% en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans es efectiva.
- La actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava al 10% en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans es efectiva.
- La actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava al 15% en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans es efectiva.
- La actividad antibacteriana in vitro del Psidium Guajava al 20% en comparación con la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans es efectiva.
- La actividad antibacteriana del Psidium Guajava al 5%, 10%, 15% y 20%, al compararlas entre ellas, son efectivas sobre el Streptococcus Mutans.

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1 Método de Investigación

Los métodos aplicados en este estudio son:

- Analítico: porque se analizó el efecto de las variables independientes sobre la dependiente. ¹⁸
- Síntesis: porque se formularon conclusiones de acuerdo a los objetivos de la investigación. ¹⁸
- Estadístico: porque se procesó, analizó y presentó los resultados utilizando instrumentos estadísticos. ¹⁸
- Hipotético deductivo: Porque se partió de una hipótesis, para obtener conclusiones particulares de ella, que luego fueron comprobadas experimentalmente. ¹⁸

3.2 Enfoque investigativo

Cuantitativo: porque se hizo uso de la estadística para procesar e interpretar los resultados. ¹⁸

3.3 Tipo y nivel de investigación

Tipo de investigación

Aplicada, porque aplicó el conocimiento previo producto de otros estudios, de forma práctica y aumento el conocimiento. ¹⁸

Nivel de investigación

- Comparativo: porque se compararon el efecto antibacteriano de dos variables independientes.¹⁸
- Prospectivo: porque los datos se obtuvieron después de ejecutar la parte experimental.¹⁸
- Transversal: Porque los resultados se recabaron en un solo momento.¹⁸

3.4 Diseño de la investigación

Experimental, porque se manipuló la variable independiente.¹⁸

3.5 Población, muestra y muestreo

3.5.1 Población

La muestra estuvo conformada por 120 discos de difusión.

3.5.2 Muestra

La fórmula que se aplicó fue comparación de medias por ser de tipo cuantitativo y sustituyendo los valores conforme a lo obtenido en el estudio piloto.

Halos de inhibición en milímetros

Control (-)	<i>Streptococcus mutans</i>	0	0	0	0	0
(agua destilada)						
<i>Psidium guayaba</i> 5%		2	0	3	2	2

<i>Psidium</i>					
<i>guayaba 10%</i>	7	9	6	8	7
<i>Psidium</i>					
<i>guayaba 15%</i>	10	11	12	9	10
<i>Psidium</i>					
<i>guayaba 20%</i>	15	13	14	12	12
Clorhexidina					
0.12 %	15	14	12	13	14
(control +)					

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 * (s_1^2 + s_2^2)}{d^2}$$

Donde:

S₁ = Desviación Estándar del grupo prueba = 1.17

S₂ = Desviación Estándar del grupo control = 1.02

d = 1 (Asumido por el investigador = 1 mm de diferencia entre grupo control y la prueba)

Z_α: 1.96 (Coeficiente de confianza)

Z_β: 0.84 (Coeficiente de potencia)

Obteniendo n = 18.88 tomando como final n = 20 de muestra por grupo.

Criterios de selección.

a. Criterios de inclusión:

Cepas identificadas de *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175).

Cepas de *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175), reactivadas.

b. Criterios de exclusión:

Cepas no identificadas de *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175).

Cepas de *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175), no reactivadas.

3.6 Variables y operacionalización

3.6.1 Variables:

Variable Independiente:

- Extracto etanólico de *Psidium Guajava*
- Clorhexidina acuosa

Variable Dependiente:

- *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175)

3.6.2 Operacionalización de las variables

VARIABLE	DIMENSIÓN	INDICADOR	ITEMS	VALOR	ESCALA DE MEDICIÓN	TIPO DE MEDICIÓN
----------	-----------	-----------	-------	-------	--------------------	------------------

Extracto etanólico de <i>Psidium Guajava</i>	-Solución al 5%	-Forma halo de inhibición	1	Si / No	Nominal	Cualitativa
	-Solución al 10%	-Forma halo de inhibición	2	Si / No		
	-Solución al 15%	-Forma halo de inhibición	3	Si / No		
	-Solución al 20%	-Forma halo de inhibición	4	Si / No		
<i>Clorhexidina acuosa</i>	-Solución al 0,12%	-Forma halo de inhibición	5	Si / No	Nominal	Cualitativa
<i>Streptococcus Mutans</i>	-Inhibición de crecimiento	-Diámetro de los halos de inhibición	6	0 mm. a más.	Continua / razón	cuantitativa

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.7.1 Técnica:

La técnica que se utilizó es la Observación porque se empleó la visión directa, en el cuál se utilizó como instrumento la guía de observación, con ayuda de una regla milimetrada se midió el diámetro de los halos inhibitorios que se formaron en torno a los discos de difusión y se procedió a anotar las medidas obtenidas en la ficha de recolección de datos tomada de Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco por difusión. Instituto Nacional de Salud (INS), 2002. (Ver anexo 2).

3.7.2 Descripción:

La obtención de la *Psidium guajava* fue realizada y comprobada taxonómicamente por un Biólogo, Doctor y Magíster en botánica con más de 10 años de experiencia y la obtención de las diferentes concentraciones al 5%, 10%, 15% y 20% estuvo a cargo de un Químico Farmacéutico especialista en fitología y magíster en biotecnología con más de 20 años de experiencia.

Para la disolución del medio de cultivo deshidratado, se rotuló los envases para las cantidades y volúmenes requeridos. Se obtuvo el agar Mueller Hinton de un laboratorio químico acreditado y se continuó a colocar en Baño María y luego cuando estuvo en su forma líquida se vació sobre placas petri estériles (divididas en 6 cuadrantes, en donde se rotuló con plumón cada cuadrante indicando las concentraciones de la guayaba y los cuadrantes para la clorhexidina y el control negativo) hasta 4mm de espesor.

El cultivo de las cepas se llevó a cabo en el laboratorio de Ciencias Básicas de la Universidad Alas Peruanas Filial Huacho, por el investigador, previamente capacitado por un docente asesor microbiológico con más de 10 años de experiencia, bajo la supervisión de su asesor principal se procedió al insembrado selectivo con la técnica del hisopado. Después de ser sembrado se colocó los discos de difusión, un disco por cuadrante y estos fueron previamente sumergidos en extracto etanólico de guayaba al 5%, 10%, 15%, 20%, Clorhexidina al 0.12% y agua destilada; de tal manera que en cada placa petri habrán 6 discos de difusión, luego se colocó en la incubadora a una temperatura de 37°C sin presencia de oxígeno (ideal para que crezcan las bacterias).

Luego de 24 h se procedió a medir los halos de Inhibición y anotarlos en la ficha de recolección de datos.

3.8 Procesamiento y análisis de datos

Los datos conseguidos fueron almacenados en un archivo de datos de Microsoft Excel 2016 para después ser subida por el Spss versión 24 donde se examinaron respondiendo a las preguntas de investigación formuladas.

La descripción de los resultados se resumió con las tablas de clasificación en valores descriptivos de tendencia central y dispersión. A su vez, se emplearon gráficos de cajas y bigotes para interpretar la distribución de los datos.

3.8.1 Técnicas Estadísticas Utilizadas

3.8.1.1 Descriptivo:

Para organizar los datos de la variable diámetro del halo inhibitorio, de tipo cuantitativa, donde se emplearon medidas de tendencia central: media aritmética y mediana, valores máximos y mínimos, así como medias de dispersión como la desviación estándar.

3.8.1.2 Inferencial

Para la prueba de hipótesis de diferencia entre los grupos de estudio se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis a grupos independientes. Esta prueba fue empleada porque los datos obtenidos no presentaron distribución normal.

Estos análisis estadísticos fueron comparados al nivel de confianza al 95% y nivel de significancia del 5%.

3.9 Aspectos éticos

El estudio presente es de tipo *in vitro* en tal sentido no implica la participación directa de pacientes para su desarrollo, ésta investigación no guarda ninguna incompatibilidad de interés de cualquier tipo con el investigador.

CAPITULO IV

PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Resultados

4.1.1 Análisis descriptivo de resultados

La tabla N° 1 presentan valores descriptivos en el diámetro del halo de inhibición, donde el grupo PG5% mostro unos valores de 12,20 mm \pm 0,77 mm con mediana de 12mm; PG10% 13,30 mm \pm 0,57 mm y mediana de 13mm; PG15% 14,30 mm \pm 0,66 mm y mediana 14; PG20% 14,70 mm \pm 0,57 mm y mediana de 15; mientras que el grupo control CLX mostro valores de 15,0 mm \pm 0,79 mm con mediana de 15mm. El gráfico 1 muestra la distribución de los valores del halo de inhibición por grupo de estudio, donde se observa una tendencia creciente sobre la inhibición bacteriana medida por halos de inhibición.

4.1.2 Análisis inferencial de resultados

4.1.2.1 Comparación de la actividad antibacteriana del Psidium Guajava al 5% y la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre los grupos evaluados.

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre al menos dos grupos evaluados

Al realizar las comparaciones entre grupos, se observa que las diferencias halladas son muy significativas entre PG 5% y CLX ($p < 0.001$). Tabla 2

4.1.2.2 Comparación de la actividad antibacteriana del Psidium Guajava al 10% y la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans.

Hipótesis Estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre los grupos evaluados

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre al menos dos grupos evaluados

Al realizar las comparaciones con los grupos, se observa que las diferencias encontradas son muy significativas entre PG 10% y CLX ($p < 0.001$). Tabla 3

4.1.2.3 Comparación de la actividad antibacteriana del Psidium Guajava al 15% y la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans.

Hipótesis Estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre los grupos evaluados.

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre al menos dos grupos evaluados

Al hacer las comparaciones entre grupos, este contempla que las diferencias halladas no son significativas entre PG 15% y CLX ($p = 0,601$). Tabla 4

4.1.2.4 Comparación de la actividad antibacteriana del Psidium Guajava al 20% y la Clorhexidina al 0.12%, sobre el Streptococcus Mutans.

Hipótesis Estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre los grupos evaluados

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre al menos dos grupos evaluados

Al hacer las comparaciones con los grupos, se observa que las diferencias halladas no son significativas entre PG 20% y CLX ($p=1.00$). Tabla 5

4.1.2.5 Comparación de la actividad antibacteriana del Psidium Guajava al 5%, 10%, 15% y 20% entre ellas, sobre el Streptococcus Mutans.

Hipótesis Estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre los grupos evaluados

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre al menos dos grupos evaluados

Al hacer las comparaciones con los grupos, se contempla que las diferencias halladas significativas fueron entre PG 5% y PG 15% ($p<0.05$), PG 20% ($p<0.05$), CLX ($p<0.05$). También se hallaron diferencias significativas entre PG 10% con PG 15% ($p<0.05$), PG20 % ($p<0.05$) y CLX ($p<0.05$). Los grupos PG 15% ($p>0.05$) y PG 20% ($p>0.05$) no fueron diferentes estadísticamente con el grupo CLX. Tabla 6.

Tabla 1. Valores descriptivos del halo de inhibición para el cultivo de *Streptococcus Mutans* por grupos de estudio.

Grupos	Media	IC media 95%		Mediana	DE	Mínimo	Máximo
		Li	Ls				
PG 5%	12,20	11,84	12,56	12,00	0,77	11,00	13,00
PG 10%	13,30	13,03	13,57	13,00	0,57	12,00	14,00
PG 15%	14,30	13,99	14,61	14,00	0,66	13,00	15,00
PG 20%	14,70	14,43	14,97	15,00	0,57	14,00	16,00
CLX	15,00	14,63	15,37	15,00	0,79	14,00	17,00

PG: *Psidium guajava*; CLX: Clorhexidina, IC: Intervalo de confianza al 95%; Li: Límite inferior; Ls: Límite superior; DE: Desviación estándar.

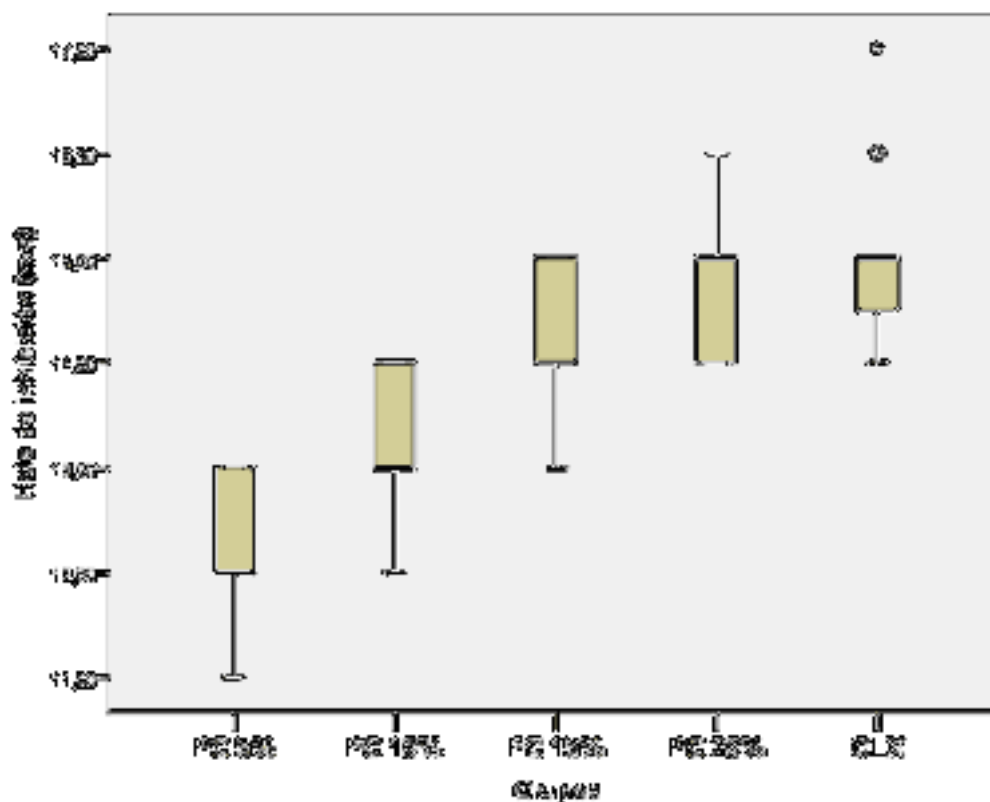


Figura 1. Distribución de los valores del halo de inhibición por grupos evaluados

Tabla 2. Comparación de la actividad antibacteriana del *Psidium guajava* al 5% y la

Grupos	Media	Mediana	DE	p-valor ^a
PG 5%	12,20	12,00	0,77	0,000*
CLX	15,00	15,00	0,79	

Clorhexidina al 0.12%, sobre el *Streptococcus Mutans*.

**Diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) Basada en a prueba de Kruskall Wallis; PG: *Psidium guajava*; CLX: Clorhexidina; DE: Desviación estándar.*

Tabla 3. Comparación de la actividad antibacteriana del *Psidium guajava* al 10% y la

Grupos	Media	Mediana	DE	p-valor ^a
PG 10%	13,30	13,00	0,57	0,000*
CLX	15,00	15,00	0,79	

Clorhexidina al 0.12%, sobre el *Streptococcus Mutans*.

**Diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) Basada en a prueba de Kruskall Wallis; PG: *Psidium guajava*; CLX: Clorhexidina; DE: Desviación estándar*

Tabla 4. Comparación de la actividad antibacteriana del *Psidium Guajava* al 15% y la

Grupos	Media	Mediana	DE	p-valor ^a
PG 15%	14,30	14,00	0,66	0,601
CLX	15,00	15,00	0,79	

Clorhexidina al 0.12%, sobre el *Streptococcus Mutans*.

*Basada en a prueba de Kruskall Wallis; PG: *Psidium guajava*; CLX: Clorhexidina; DE: Desviación estándar*

Tabla 5. Comparación de la actividad antibacteriana del *Psidium Guajava* al 20% y la Clorhexidina al 0.12%, sobre el *Streptococcus Mutans*.

Grupos	Media	Mediana	DE	p-valor ^a
PG 20%	14,70	15,00	0,57	1,000
CLX	15,00	15,00	0,79	

Basada en a prueba de Kruskall Wallis; PG: *Psidium guajava*; CLX: Clorhexidina; DE: Desviación estándar

Tabla 6. Comparación de la actividad antibacteriana del *Psidium guajava* al 5%, 10%, 15% y 20% entre ellas, sobre el *Streptococcus mutans*.

Grupo1-Grupo 2	Estadístico	p-valor ^a
PG 5%-PG 10%	-18,750	0,345
PG 5%-PG 15%	-45,550	0,000*
PG 5%-PG 20%	-56,475	0,000*
PG 5%-CLX	-62,225	0,000*
PG 10%-PG 15%	-26,800	0,025*
PG 10%-PG 20%	-37,725	0,000*
PG 10%-CLX	-43,475	0,000*
PG 15%-PG 20%	-10,925	1,000
PG 15%-CLX	-16,675	0,601
PG 20%-CLX	-5,750	1,000

*Diferencia significativa ($p < 0.05$) Basada en a prueba de Kruskall Wallis; PG: *Psidium guajava*; CLX: Clorhexidina.

4.1.3 Discusión de resultados

Este estudio obtuvo halos de inhibición del *Psidium Guajava* al 15% y 20% con valores de $14,30 \text{ mm} \pm 0,66 \text{ mm}$ y $14,70 \text{ mm} \pm 0,57 \text{ mm}$ respectivamente, siendo estos resultados similares a lo obtenido por Álvarez et al ¹ que obtuvieron halos en promedio de 15.4mm, quedando demostrado su efecto antimicrobiana sobre el *Streptococcus Mutans*.; siendo a la vez similar a los resultados obtenidos por Rajesh et al ² quien afirma que la concentración de *Psidium Guajava* al 1%, 5%, 10%, 15% y 20% presentan efecto antibacteriano significativo frente al *S. Mutans*, sin embargo en nuestro estudio sólo se obtuvo efectos similares significativos a la concentración de 15% y 20% .

La concentración de *Psidium Guajava* de 150 mg/ml logró formar halos de hasta 14.96 mm y la concentración de 200 mg/ml logró formar halos de hasta 15.27 mm, discrepando con Chero D.⁹ puesto que obtuvo a la concentración de 18 mg/ml, un halo superior a los 28 mm. Este autor atribuye a los polifenoles que contiene la *Psidium Guajava*, su efecto bactericida contra el *Streptococcus Mutans*, concordando con esta investigación puesto que se comprobó que la *Psidium Guajava* presentó reacción positiva a la prueba química de shinoda, demostrando que éste contiene flavonoides, y éste a su vez contiene potentes efectos inhibitorios sobre el *Streptococcus Mutans* puesto que este compuesto químico neutraliza el pH ácido que genera esta bacteria haciéndolo neutro y además también interrumpe la reacción enzimática de la glucosiltransferasa que utiliza el *S. mutans* para absorber glucosa, metabolizarla y de ésta manera liberar ácido láctico, interrumpiendo de esta manera su acción cariogénica, tal como prueban el estudio realizado por Bhagavathy et al ⁵ y el análisis fitoquímico realizado por Gauniyal et al ⁸ que confirma la presencia de flavonoides.

En este estudio se obtuvo que el control positivo (clorhexidina al 0.12%) llegó a formar halos inhibitorios de $15,0 \text{ mm} \pm 0,79 \text{ mm}$, siendo esto similar a lo obtenido por Shekar et al ⁶ que obtuvo halos de $14.50 \text{ mm} \pm 2.07 \text{ mm}$ respecto a la Clorhexidina al 0.12% y con respecto al *Psidium Guajava* la combinó con *Acacia nilotica* llegando a obtener de esta manera halos de inhibición de $21,08 \text{ mm} \pm 2,11 \text{ mm}$ frente a *Streptococcus Mutans*. Respecto a este último, en este estudio no se potencializó la acción de la guayaba con ninguna planta tradicional, sin embargo si se sugiere probar combinaciones de la guayaba con otros productos naturales que contengan polifenoles o flavonoides, para así poder corroborar si hay algún tipo de acción sinérgica.

Shekar et al ⁷ realizó pruebas antibacterianas usando extracto etanólico *Psidium Guajava* y Clorhexidina al 0.12% en cepas de *S. Mutans* de la *American Type Culture Collection* utilizando un método de difusión en agar, usando como método de extracción al calor o frío y se demostró que independientemente del método de extracción empleado la *Psidium Guajava* presentaba efectos inhibitorios significativos contra el *S. Mutans*; afirmando de esta manera los resultados obtenidos en esta investigación, el cual se trabajó con método de extracción al calor.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Los grupos de *Psidium guajava* al 15%, 20% y clorhexidina al 0.12% presentan mayor diámetro de halo de inhibición.
- El halo de inhibición del grupo clorhexidina al 0.12% fue significativamente mayor que el producido por el grupo de *Psidium guajava* al 5%.
- El halo de inhibición del grupo clorhexidina al 0.12% fue significativamente mayor que el producido por el grupo de *Psidium guajava* al 10%.
- No existe diferencia significativa del halo de inhibición entre los grupos de *Psidium Guajava* al 15% y Clorhexidina al 0.12%.
- No hubo diferencias estadísticamente significativas del halo de inhibición entre los grupos de *Psidium Guajava* al 20% y Clorhexidina al 0.12%.
- Los grupos con una actividad antibacteriana mayor fueron *Psidium Guajava* al 15%, 20% y Clorhexidina al 0.12%.

5.2 Recomendaciones

- Se recomienda el uso de los extractos de Psidium Guajava al 15% y 20% en enjuagues bucales o pastas dentales para disminuir la carga bacteriana.
- Se recomienda promocionar el uso del extracto de Psidium Guajava como alternativa a la clorhexidina por su bajo costo.
- Se recomienda el uso tanto del Psidium guajava como la Clorhexidina para la prevención caries dental.
- Se recomienda hacer un estudio comparativo del extracto etanólico de guayaba y antibióticos como la vancomicina y metronidazol.
- Se recomienda hacer estudios con el extracto etanólico de la guayaba y evaluar su concentración máxima con efecto citotóxico en células madres de riñón de *Canis familiaris* o células de Erizo de mar.
- Se recomienda hacer estudios para evaluar la eficacia del extracto etanólico de guayaba al 15% y 20% a través del método de conteo de colonias.

REFERENCIAS

1. Álvarez Lorenzo M. Comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Psidium guajava* (guayaba) y *Punica Granatum* (granada) sobre el *Streptococcus mutans* estudio *in vitro*. Univ Nac Hermilio Valdizán [Internet]. 2018 [citado el 24 de julio de 2018]; Disponible en: <http://repositorio.unheval.edu.pe/handle/UNHEVAL/3002>
2. Rajesh G. Antimicrobial efficacy of Punicagranatum mesocarp, Nelumbonucifera leaf, Psidiumguajava leaf and Coffeacanephora Extract on Common Oral Pathogens: An in-vitro Study. J Clin Diagn Res [Internet]. 2014 [citado el 23 de julio de 2018]; Disponible en: http://jcdr.net/article_fulltext.asp?issn=0973-709x&year=2014&volume=8&issue=7&page=ZC65&issn=0973-709x&id=4629
3. Pineda Castillo CA. Efecto Antimicrobiano de *Psidium guajava* L. contra *Salmonella typhymurium* en *Cavia porcellus* L. [Tesis para optar el Grado Academico de Magister en Microbiología]. [Lima-Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013.
4. Ojeda-Garcés JC, Oviedo-García E, Salas LA. *Streptococcus mutans* and dental caries. CES Odontol. enero de 2013;26(1):44–56.
5. Bhagavathy S, Mahendiran C, Kanchana R. Identification of glucosyl transferase inhibitors from *Psidium guajava* against *Streptococcus mutans* in dental caries. J Tradit Complement Med [Internet]. mayo de 2018 [citado el 23 de julio de 2018];1(14). Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2225411017301104>

6. Shekar C, Nagarajappa R, Singh R, Thaku R. Antimicrobial efficacy of the combinations of *Acacia nilotica*, *Murraya koenigii* L. sprengel, *Eucalyptus hybrid* and *Psidium guajava* on primary plaque colonizers. *J Basic Clin Pharm.* 2014;5(4):115.
7. Shekar C, Nagarajappa R, Singh R, Thakur R. Antimicrobial efficacy of *Acacia nilotica*, *Murraya koenigii* L. Sprengel, *Eucalyptus hybrid*, and *Psidium guajava* on primary plaque colonizers: An in vitro comparison between hot and cold extraction process. *J Indian Soc Periodontol.* 2015;19(2):174.
8. Gauniyal P, Teotia DUS. Antimicrobial Activity of Sixteen Medicinal Plants against Oral Flora and its Efficacy Comparison with 2% Chlorhexidine. 2014.
9. Chero D. Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Psidium guajava* y *Medicago sativa* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 [Tesis para optar al Título Profesional de Cirujano Dentista]. [Pimentel - Perú]: Universidad Señor de Sipan; 2016.
10. Montenegro P. Efectividad antibacteriana de la hoja de la guayaba y clorhexidina sobre el *streptococcus mutans* [Tesis para optar al Título Profesional de Cirujano Dentista]. [La libertad, Trujillo]: Universidad Católica los Angeles Chimbote;2017.
11. Ocampo RA, Turrialba R. Domestication de plantas medicinales en Centroamerica. Bib. Orton IICA / CATIE; 1994. 144 p.
12. Sánchez MFO. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. I. España: aiyana ediciones; 2006. 278 p.
13. Negroni M. Microbiología Estomatológica. Ed. Médica Panamericana; 2009. 660 p.

14. Morante Mudarra S, Bascones Martínez A. Valoración cruzada y a doble ciego, mediante el modelo de gingivitis experimental, de la eficacia de tres colutorios de clorhexidina sin alcohol frente a la prevención de gingivitis y a la neoformación de placa supragingival [Internet]. [Madrid]: Universidad Complutense de Madrid; 2003 [citado el 22 de julio de 2018]. Disponible en: <http://site.ebrary.com/id/10115448>
15. Sanchez DMP, Velandia YAH. Diseño y valoración de un medio de cultivo selectivo (SULBAC) [Tesis para optar al Título de Bacteriologo]. [Bogota - Colombia]: Pontificia Universidad Javeriana; 2006.
16. Martos PG, Salido FP, Barrio MTF del. Microbiología clínica práctica. Servicio Publicaciones UCA; 1994. 492 p.
17. Marzocca A. Nociones básicas de taxonomía vegetal. IICA; 1985. 274 p.
18. Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). Metodología de la Investigación. México D.F., México: McGraw-Hill Interamericana.
19. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco por difusión. Instituto Nacional de Salud (INS), 2002. Disponible en: https://bvs.ins.gob.pe/insprint/SALUD_PUBLICA/NOR_TEC/30.pdf

ANEXOS

ANEXO 01

MATRIZ DE CONSISTENCIA

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL *PSIDIUM GUAJAVA* EN COMPARACIÓN A LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE EL *STREPTOCOCCUS MUTANS* (ATCC 25175)”

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADOR	VALOR	MÉTODO
<p>Problema general :</p> <p>¿Cómo es la actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> en comparación con la clorhexidina al 0.12%, sobre el <i>Streptococcus mutans</i>?</p> <p>Problemas específicos</p> <p>¿Cómo es la actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> al 5% sobre el <i>Streptococcus mutans</i>, en comparación con la clorhexidina al 0.12%?</p>	<p>Objetivo general:</p> <p>Determinar la actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> en comparación con la clorhexidina al 0.12%, sobre el <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>Determinar la actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> al 5% en comparación con la clorhexidina al 0.12%, sobre el <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>Determinar la actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> al 10% en comparación con la clorhexidina al</p>	<p>Hipótesis principal:</p> <p>La actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> en comparación con la clorhexidina al 0.12%, sobre el <i>Streptococcus mutans</i> es efectiva.</p> <p>Hipótesis específicas</p> <p>La actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> al 5% en comparación con la clorhexidina al 0.12%, sobre el <i>Streptococcus mutans</i> es efectiva.</p> <p>La actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> al 10% en comparación con la clorhexidina al</p>	<p>Variable Independiente</p> <p>- Extracto etanólico de <i>Psidium guajava</i></p> <p>- Clorhexidina acuosa</p>	<p>-Solución al 5%</p> <p>-Solución al 10%</p> <p>-Solución al 15%</p> <p>-Solución al 20%</p> <p>-Solución al 0,12%</p>	<p>-Formación de halos de inhibición</p> <p>-Formación de halos de inhibición</p> <p>-Formación de halos de inhibición</p> <p>-Formación de halos de inhibición</p> <p>-Formación de halos de inhibición</p>	<p>Si / No</p> <p>Si / No</p> <p>Si / No</p> <p>Si / No</p> <p>Si / No</p>	<p>Enfoque:</p> <p>Cuantitativo</p> <p>Nivel:</p> <p>Aplicativo</p> <p>Tipo:</p> <p>Prospectivo, Transversal y Comparativo</p> <p>Diseño de investigación:</p> <p>Experimental</p> <p>Método:</p> <p>-Analítico</p>

<p>¿Cómo es la actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> al 10% sobre el <i>Streptococcus mutans</i>, en comparación con la clorhexidina al 0.12%?</p> <p>¿Cómo es la actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> al 15% sobre el <i>Streptococcus mutans</i>, en comparación con la clorhexidina al 0.12%?</p> <p>¿Cómo es la actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> al 20% sobre el <i>Streptococcus mutans</i>, en comparación con la clorhexidina al 0.12%?</p> <p>¿Qué concentración de <i>Psidium guajava</i> presenta mejor actividad antibacteriana sobre el <i>Streptococcus mutans</i>?</p>	<p>0.12%, sobre el <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>Determinar la actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> al 15% en comparación con la clorhexidina al 0.12%, sobre el <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>Determinar la actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> al 20% en comparación con la clorhexidina al 0.12%, sobre el <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>Comparar la actividad antibacteriana del <i>Psidium guajava</i> al 5%, 10%, 15% y 20% entre ellas, sobre el <i>Streptococcus mutans</i>.</p>	<p>0.12%, sobre el <i>Streptococcus mutans</i> es efectiva.</p> <p>La actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> al 15% en comparación con la clorhexidina al 0.12%, sobre el <i>Streptococcus mutans</i> es efectiva.</p> <p>La actividad antibacteriana in vitro del <i>Psidium guajava</i> al 20% en comparación con la clorhexidina al 0.12%, sobre el <i>Streptococcus mutans</i> es efectiva.</p> <p>La actividad antibacteriana del <i>Psidium guajava</i> al 5%, 10%, 15% y 20%, al compararlas entre ellas, son efectivas sobre el <i>Streptococcus mutans</i>.</p>	<p>Variable Dependiente:</p> <p><i>Streptococcus mutans</i></p>	<p>-Inhibición de crecimiento</p>	<p>-Diámetro de los halos de inhibición</p>	<p>0mm. a más.</p>	<p>- Síntesis</p> <p>- Estadístico</p> <p>- Hipotético deductivo</p> <p>Técnica:</p> <p>Observación directa</p> <p>Instrumento:</p> <p>Guía de observación</p> <p>Ficha de recolección tomada de Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco por difusión.</p> <p>Instituto Nacional de</p>
---	---	--	--	-----------------------------------	---	--------------------	--

								Salud (INS), 2002. Población: -120 discos de difusión. Muestra: -20 discos por grupo.
--	--	--	--	--	--	--	--	--

ANEXO N° 02

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

B A C T E R I A	ANTIMICRO- BIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DISCO/DIAMETRO mm																			
			N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5	N° 6	N° 7	N° 8	N° 9	N° 10	N° 11	N° 12	N° 13	N° 14	N° 15	N° 16	N° 17	N° 18	N° 19	N° 20
S T R E P T O C O C C U S	Agua destilada	Puro	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Psidium Guajava	5%	13	13	11	12	13	12	12	11	13	11	12	12	13	13	13	14	12	13	13	12
		10%	13	14	12	13	13	13	14	13	13	13	14	13	13	14	14	13	14	14	13	13
		15%	14	14	13	15	14	14	15	13	15	14	14	14	15	15	15	15	15	15	15	15
		20%	16	15	14	15	14	15	15	14	14	14	14	15	14	15	15	15	16	15	16	14
M U T A N S	Clorhexidina	0.12%	16	15	14	15	14	15	15	14	14	14	15	14	15	14	14	15	14	16	15	

*Ficha de recolección tomada de Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco por difusión. Instituto Nacional de Salud (INS), 2002

ANEXO N° 03

SOLICITUD PARA EL USO DE LABORATORIO

ANEXO N° 01



Solicito: Materiales y el uso del laboratorio

Señor Coordinador de la Escuela Académico Profesional de Estomatología
Filial Huacho

CD. Javier Ramos de los Ríos

De mi mayor consideración:

Me dirijo a Ud. con el principal motivo de solicitarle tenga a bien proporcionarme el uso del laboratorio de ciencias de la Salud durante los horarios que no coincidan con los horarios de práctica de los docentes, para ejecución de la parte experimental de mi proyecto de tesis, durante los meses de marzo y abril del 2019.

Dicho pedido se basa en la realización de la parte procedimental de mi tesis y obtener mi título profesional.

Sin otro particular y contando con su aprobación y buena voluntad lo saludo muy cordialmente

Atentamente:

Jacqui

.....

Bach. Irigoyen Fuentes Jacqueline Victoria

Huacho, 25 de marzo del 2019

Muz. Bellegada

*Por favor brindarme la
facilidad a la alumna para poder
consultar o pronto de sus*

Grisio



J. Ramos

CD. JAVIER DAVID RAMOS DE LOS RÍOS
COORDINADOR ACADÉMICO DE ESTOMATOLOGÍA

37

ANEXO N° 04

TAXONOMÍA DE LAS HOJAS DE GUAYABA



Universidad Nacional
Federico Villarreal



CONSTANCIA

Conste por medio del presente documento quien suscribe JORGE LUIS LÓPEZ BULNES con DNI 08153989, Biólogo de profesión con N° de colegiatura y habilitación 8932 CBP magister en Botánica tropical mención taxonomía y sistemática evolutiva acreditado por la UNMSM, doctor en Medio ambiente y desarrollo Sostenible en la universidad nacional Federico Villarreal, Consultor ambiental en Tecnología y Gestión Ambiental S.A.C, consultor en Ingeniería Socioambiental siendo participante en la elaboración de proyectos con instrumentos de gestión ambiental - EIA, elaboración de línea base.

Jefe del herbario de la universidad nacional Federico Villarreal, y docente catedrático en universidad nacional del callao escuela de post grado y en Universidad nacional Federico Villarreal, dejo constancia y doy fe que en el ejercicio de mi profesión y amparado en la ley del Biólogo N° 28847 he realizado la identificación taxonómica de la especie según La taxonomía actual APG – III 2009 (Grupo filogenético de angiospermas), siendo.

Clado. **Malvidas**

Orden. **Myrtales**

Familia. **Myrtaceae**

Especie. ***P. guajava***

Nombre común. "guayabo"

se realizó la extracción de las hojas de la planta, con etanol en 100 g por 1000 ml en suspensión y esta fue macerada hasta agotamiento decantada y filtrada al vacío y concentrada en rota vapor obteniéndose con una pureza del 98%.

La muestra para extraer fue proporcionada por el propio cliente.



En cuanto a su composición química

Las hojas de esta planta contienen taninos y fenoles, flavonoides y triterpenos y esteroides, así como de saponinas y compuestos aminados.

Se reporta un aceite esencial y otras sustancias volátiles, además, ácido guajanoico, β -sitosterol, uvaol, ácido oleanólico y ácido ursólico; ácido 2- α -hidroxiursólico, morin-3-O- α -L-arabopiranosido, hiperina, miricetina-3-O- α -D-glucosido, quercetin-3-O- β -D-glucuronopiranosido, 1-O-galoil- α -D-glucosa.

También presenta ácido ascórbico, así como azúcares reductores y alcaloides. Se aisló benzofenona y un flavonol de naturaleza galoil-glicósido, con 5 nuevos quercetin-glicósidos.

En ejercicio de mi derecho profesional extendiendo la presente constancia a solicitud del bachiller, Jacqueline Victoria Irigoyen Fuentes identificada con DNI. 76916206 requerido para fines de investigación, lo cual manifiesta.

Se extiende la presente constancia a los 28 días del mes de

Febrero de 2019



Jorge Luis López Buitrago

Botánico
CBP 8832

Jefe de Herbario UFV

Mg: Botánica Tropical

Doctor: medio ambiente y Desarrollo Sostenible

ANEXO N° 05

CONSTANCIA DE EXTRACTO ETANÓLICO DE GUAYABA

CONSTANCIA

Conste por medio del presente documento que yo **Fermin Humberto Arévalo Ortiz**, con DNI 10190957, de profesión Químico Farmacéutico con No. de colegio CQFP 0076, Magister en Biotecnología acreditado por la UNMSM y Profesor del curso de Fitoquímica del Dpto. de Química de la Facultad de Ciencias de la UNALM, **dejo constancia y doy fe que, en el ejercicio de mi profesión y amparado por la Ley de Trabajo del Químico Farmacéutico, Ley No. 28173**, he realizado la preparación de extractos etanólicos de hojas de Guayaba (*Psidium guajava*) a concentraciones de 20%, 15%, 10% y 05% con respecto a la muestra estabilizada (seca). Para tal efecto la muestra vegetal fue estabilizada en estufa con circulación de aire a 40° C hasta peso constante, obteniéndose un porcentaje de humedad de la muestra de 58,17%; posteriormente la muestra fue particulada y suspendida en etanol de 96 grados alcohólicos hasta la extracción total de los componentes solubles por lixiviación a contracorriente. Finalmente la muestra fue filtrada al vacío y concentrada en rotavapor hasta obtener un extracto primigenio al 20%. A partir de este extracto y por diluciones con etanol de 96 grados alcohólicos se obtuvo las otras concentraciones.

En ejercicio de mi derecho profesional, extendiendo la presente constancia a solicitud de la Bachiller Jacqueline Victoria Irigoyen Fuentes, con DNI N° 76916206, para fines investigativos que él manifiesta.

Se extiende la presente Constancia a los 22 días del mes de marzo del 2019.


FERMIN HUMBERTO AREVALO ORTIZ
Mg. en BIOTECNOLOGÍA
QUÍMICO FARMACÉUTICO
C.Q.F.P. N° 00076


FERMIN HUMBERTO AREVALO ORTIZ
ABOGADO
C.A.C. N° 8143

ANEXO N° 06

CONSTANCIA DE OBTENCIÓN DEL MICROORGANISMO



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
Spiritus ubi vult spirat

CONSTANCIA

Quien suscribe hace constar que:

*Se han cumplido con todos los protocolos en el proceso de reactivación con el tiempo de (24/48 horas) del microorganismo *Streptococcus mutans* ATCC® 25175™ empleando el método de estándares de turbidez de McFarland de 0,5. la cual será utilizada para cumplir fines de investigación científica.*

Se expende la presente constancia para los fines convenientes.

S.M.P. Lima, abril del 2019



MSc. Maurilio Torres Dora
Docente Microbiología – FCF - UPCH
C.B.P. 0776

UPCH
Número 06

*Av. Honorio Delgado 450, Urb. Ingeniería, S.M.P. Lima – Perú.
Teléfono: (51-1) 310-0000 // email: portalweb@upch.pe*

ANEXO N° 07

Tabla de distribución normal de los datos del halo de inhibición por grupos de estudio.

Grupos	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	p-valor
PG 5%	,800	20	0,001
PG 10%	,736	20	0,000
PG 15%	,780	20	0,000
PG 20%	,736	20	0,000
CLX	,832	20	0,003

Los datos no presentan distribución normal ($p < 0,05$)

ANEXO N° 08

INFORME DE TURNITIN

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA...

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	7%
2	repositorio.unheval.edu.pe Fuente de Internet	3%
3	docplayer.es Fuente de Internet	2%
4	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	1%
5	repositorio.uss.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
8	doaj.org Fuente de Internet	1%
9	repositorio.unsaac.edu.pe Fuente de Internet	<1%

ANEXO N° 09

FOTOS

EXTRACTO ETÁNOLICO DE PSIDIUM GUAJAVA AL 0.5%, 10%, 15%, 20%.



**PRUEBA DE SHINODA:
POSITIVA PARA FLAVONOIDES.**

LAVADO Y SECADO DE PLACAS PETRI



ESTERILIZACIÓN DE PLACAS PETRI



AGAR MUELLER HINTON PREPARADO



AGAR MUELLER HINTON COLOCADO EN BAÑO MARÍA



AGAR MUELLER HINTON COLOCADO EN PLACASA PETRI



PLACAS PETRI DIVIDAS POR CUADRANTES



COLOCACIÓN DE LAS BACTERIAS EN EL ESPECTOFOTÓMETRO



SEMBRADO



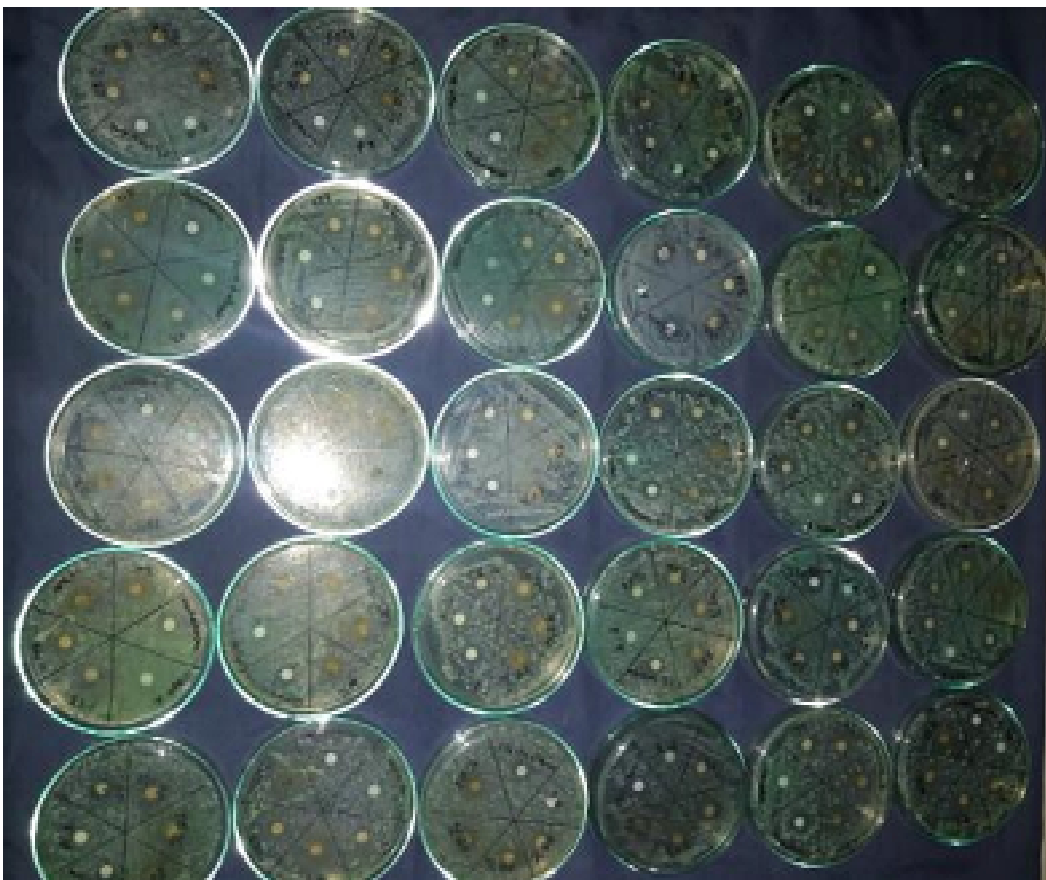
DISCOS SUMERGIDOS EN EXTRACTO ETANÓLICO
DE PSIDIUM GUAJAVA Y CLORHEXIDINA



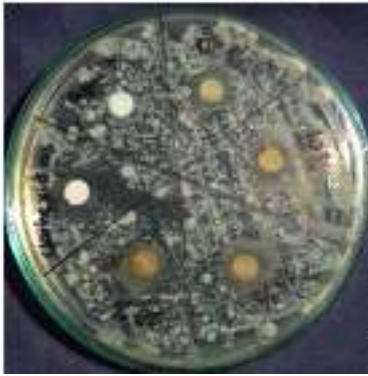
DISCOS COLOCADOS EN LAS PLACAS PETRI



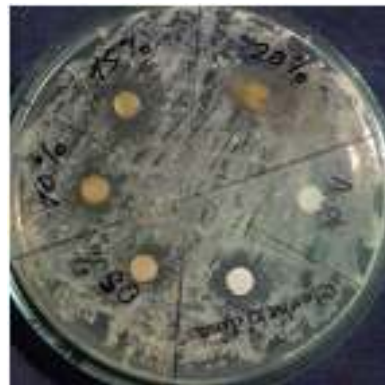
DESPUÉS DE 24 HORAS EN LA INCUBADORA



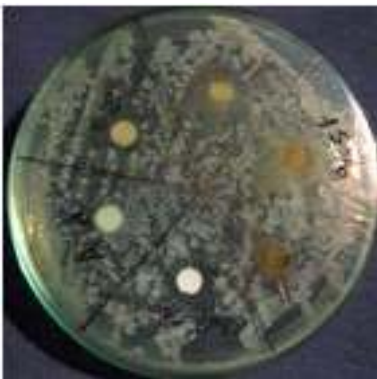
N°1



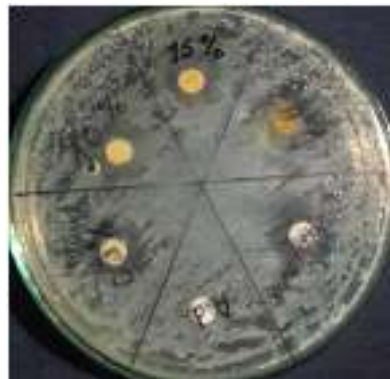
N°2



N°3



N°4



N°5



N°6



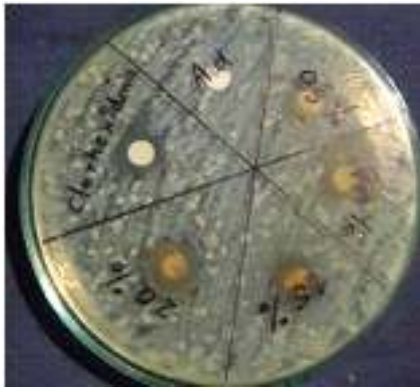
N°7



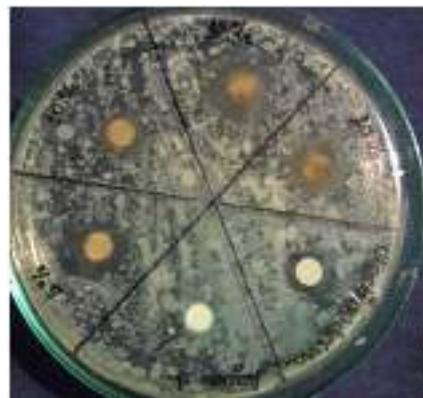
N°8



N°9



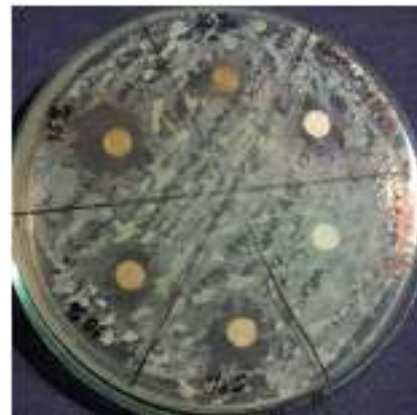
N°10



N°11



N°12



N°13



N°14



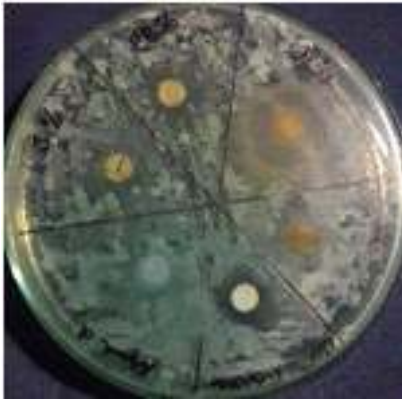
N°15



N°16



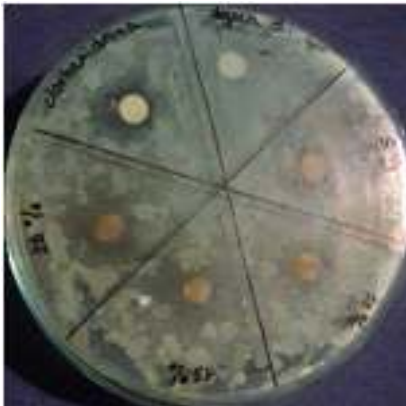
N°17



N°18



N°19



N°20



HALOS DE INHIBICIÓN BACTERIANA

AGUA DESTILADA = No formó halo.

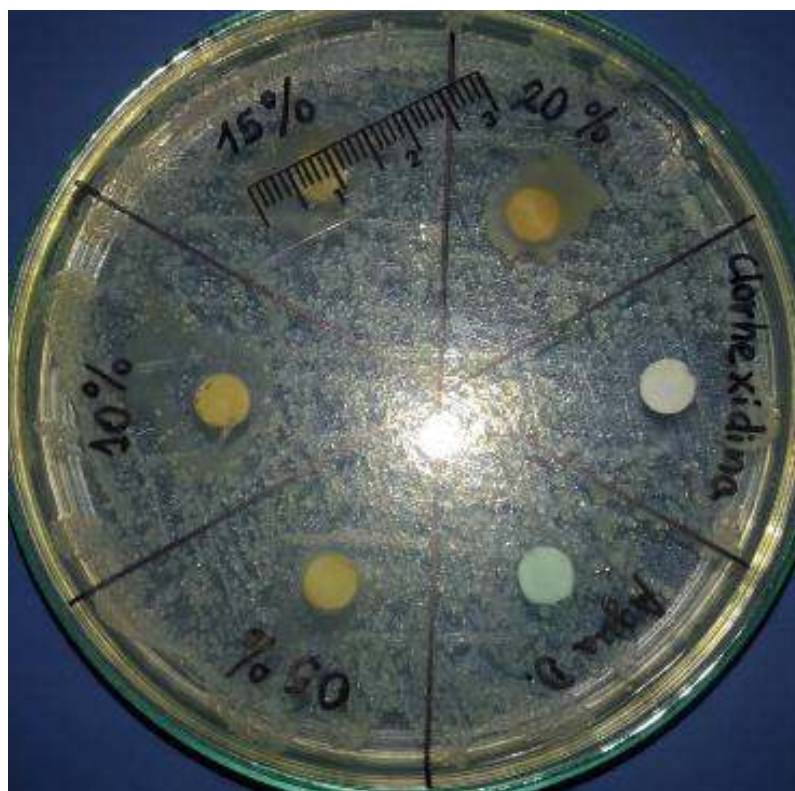
EXTRACTO AL 0.5% = Halo de inhibición 12 mm.



EXTRACTO AL 10% = Halo de inhibición 12 mm.



EXTRACTO AL 15% = Halo de inhibición 14 mm.



EXTRACTO AL 15% = Halo de inhibición 15 mm.

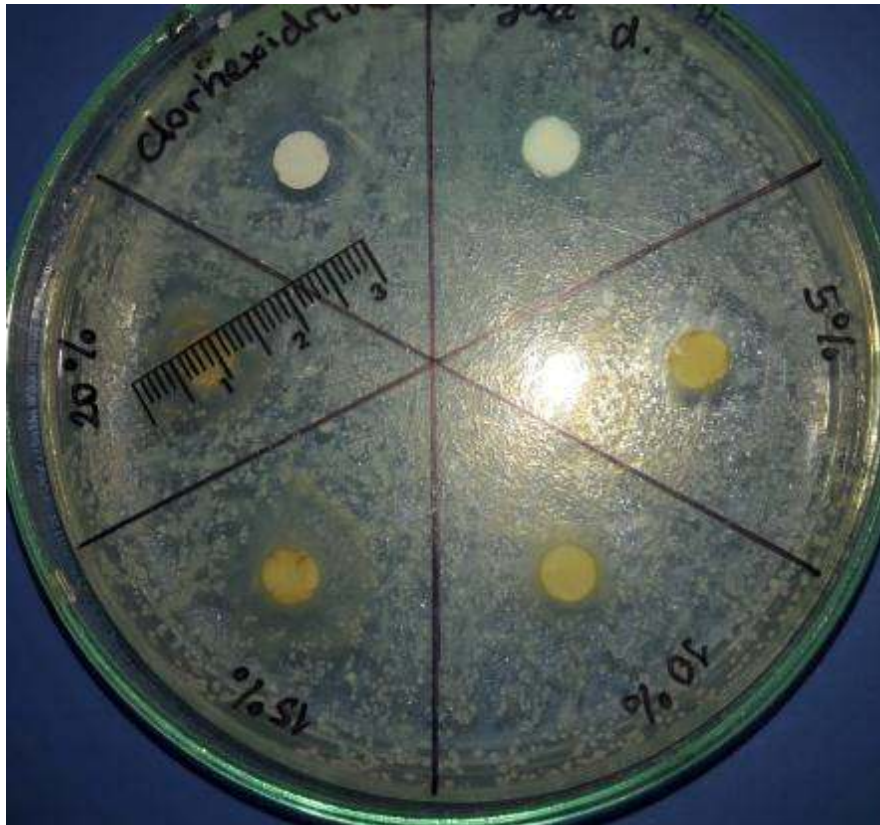




EXTRACTO AL 20% = Halo de inhibición 16 mm.



EXTRACTO AL 20% = Halo de inhibición 15 mm.



CLORHEXIDINA = Halo de inhibición 15 mm.

